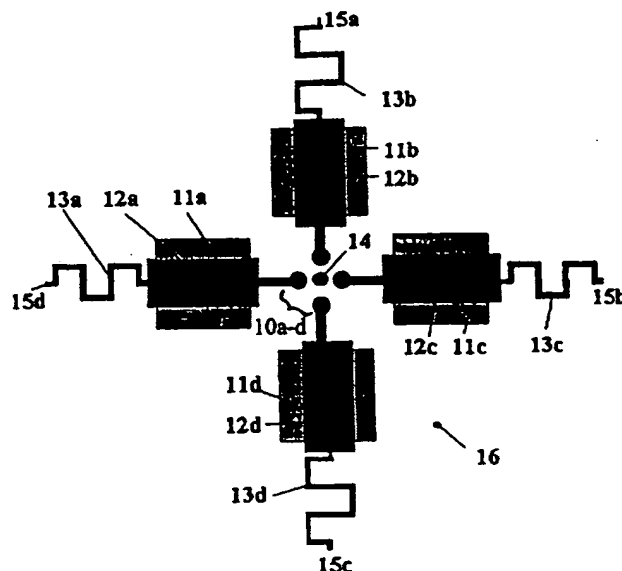




INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>G01N 33/487, B03C 5/02</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 97/20210</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 5. Juni 1997 (05.06.97)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP96/05244</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 27. November 1996 (27.11.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 195 44 127.3 27. November 1995 (27.11.95) DE</p> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: FUHR, Günter [DE/DE]; Berliner Strasse 28A, D-13127 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GIMSA, Jan [DE/DE]; Dunkerstrasse 22, D-10437 Berlin (DE). Müller, Torsten [DE/DE]; Harriegelstrasse 39, D-12439 Berlin (DE). SCHNELLE, Thomas [DE/DE]; Koppenstrasse 65, D- 10243 Berlin (DE).</p> <p>(74) Anwälte: HERTZ, Oliver usw.; Brienner Strasse 52, D-80333 München (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p><b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>
<p>(54) Title: PROCESS AND DEVICE FOR GENERATING RESONANCE PHENOMENA IN PARTICLE SUSPENSIONS</p> <p>(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR ERZEUGUNG VON RESONANZERSCHEINUNGEN IN PARTIKEL-SUSPENSIONEN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A process and control device is disclosed for the location-selective and/or type-selective control of the position and/or position modification of suspended particles in a multi-electrode system using polarisation forces induced in the particles by alternating electrical fields in the multi-electrode system, said particles comprising biological or synthetic objects of dimensions corresponding broadly to those of biological cells or organelles, viruses or macromolecules. The process and control device are based on the fact that the multi-electrode system and particle suspension together form an electrical network in which resonance means are provided for creating a resonant increase or damping in the field strength of the alternating electrical fields at certain frequencies in at least a locally restricted region of the multi-electrode system.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Ein Verfahren bzw. eine Steuervorrichtung zur orts- und/oder typselektiven Steuerung der Position und/oder der Positionsänderung suspendierter Partikel in einem Multielektrodensystem unter der Wirkung von Polarisationskräften, die in den Partikeln durch elektrische Wechselfelder in dem Multielektrodensystem induziert werden, welche Partikel biologische oder synthetische Objekte mit Abmessungen umfassen, die im wesentlichen denen von biologischen Zellen oder Zellorganellen, Viren oder Makromolekülen entsprechen, basiert darauf, daß das Multielektrodensystem mit der Partikelsuspension ein elektrisches Netzwerk bildet, in dem Resonanzmittel zur Ausbildung einer resonanten Erhöhung oder Dämpfung der Feldstärke der elektrischen Wechselfelder bei bestimmten Frequenzen in mindestens einem lokal abgegrenzten Bereich in dem Multielektrodensystem vorgesehen sind.</p>		



### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

Verfahren und Vorrichtung zur Erzeugung von  
Resonanzerscheinungen in Partikelsuspensionen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur orts- und/oder typselektiven Steuerung der Position und/oder der Positionsänderung suspendierter Partikel in einem Multielektrodensystem mit den Merkmalen der Oberbegriffe der Patentansprüche 1 oder 9, und insbesondere planare und 3-dimensionale Mikroelektrodenanordnungen in Halbleiterchipgröße bzw. ein Verfahren, um suspendierte künstliche oder lebende Teilchen (z. B. Zellen) oder organische Teilchen von mikroskopischer Größe in Flüssigkeiten zu bewegen, zu halten, zu vermessen oder zu sortieren. Zur individuellen Manipulation und/oder Charakterisierung derartiger Teilchen, insbesondere aber zu deren gerichteten Bewegung in einem Feldgradienten oder bewegten elektrischen Feld, werden dielektrische Polarisationskräfte genutzt, die über elektrische Wechselfelder erzeugt und durch Resonanzerscheinungen verstärkt werden.

Es sind zwei Grundprinzipien bekannt, nach denen derzeit eine elektrische Manipulation und Einzelobjektcharakterisierung durchführbar ist: 1. die Erzeugung von Feldgradienten in hochfrequenten Wechselfeldern (POHL, H.P., Dielectrophoresis, Cambridge University Press (1978)) und 2. die Applikation von rotierenden Feldern mit durchstimmbarer Rotationsfrequenz (ARNOLD, W.-M. and ZIMMERMANN, U., Z. Naturforsch. 37c, 908, (1982)). Benachbarte, hier nicht einbezogene Gebiete wie die Elektrophorese und andere Gleichspannungstechniken lassen sich für den genannten Partikelkreis z. T. auch anwenden, sind jedoch nicht vergleichbar effektiv anwendbar.

Das erste o. a. Prinzip führt zu einer asymmetrischen Polarisierung von Mikropartikeln, woraus, je nach Art der

Polarisation, eine Bewegung in Richtung höherer oder niedrigerer Feldstärken erfolgt. Dieses Verhalten wird als positive bzw. negative Dielektrophorese bezeichnet (Pohl, H.P., Dielectrophoresis, Cambridge University Press, (1978)) und seit mehr als 30 Jahren zur Bewegung und der Separation suspendierter dielektrischer Körper und Zellen verwendet. In den letzten Jahren haben die dielektrophoretischen Prinzipien auf biologisch/medizinischem Gebiet eine breitere Anwendung durch die Einführung halbleitertechnologisch gefertigter Mikroelektrodensysteme erfahren (WASHIZU, M. et al., IEEE Trans. IA, 25(4), 352 (1990); SCHNELLE, Th. et al., Biochim.Biophys.Acta 1157,127 (1993)).

Das zweite o. a. Prinzip, die Applikation frequenzvariabler Rotationsfelder (in diese Kategorie fallen auch lineare Wanderfelder (HAGEDORN, R. et al., Electrophoresis 13, 49 (1992))) wird zur Charakterisierung der passiven elektrischen Eigenschaften einzelner, suspendierter Partikeln, vor allem aber von Zellen benutzt (ARNOLD, W.-M. and ZIMMERMANN, U., Z.Naturforsch 37c, 908, (1982); FUHR, G. et al., Plant Cell Physiol. 31, 975 (1990)). Das Prinzip läßt sich wie folgt zusammenfassen: Ein Partikel befindet sich in einer zirkulären Elektrodenanordnung mit einem rotierenden Feld mit einer Geschwindigkeit von wenigen Hz bis zu einigen hundert MHz. Es verhält sich aufgrund der Lösungsreibung wie der Rotor eines dielektrischen Asynchronmotors. Im Falle von Zellen, die einen überaus komplizierten Aufbau besitzen (Zellwand, Membran, Organellen etc.), lassen die Frequenzspektren der Rotation (Partikeldrehung als Funktion der Rotationsfrequenz des Feldes) weitreichende Schlußfolgerungen über den physiologischen Zustand und die Eigenschaften einzelner Bestandteile derselben zu (ARNOLD, W.-M. and ZIMMERMANN, U., J. Electrostat. 21,151 (1988); GIMSA et al. in: W. SCHÜTT, H. KLINKMANN, I. LAMPRECHT, T. WILSON, Physical Characterization of Biological Cells, Verlag Gesundheit GmbH, Berlin 1991).

Alle elektrischen Wechselfeldverfahren nutzen Polarisationskräfte, die aus der Relaxation induzierter Ladungen resultieren. Nachteilig ist die Halbwertsbreite der dielektrischen Dispersionen, die etwa bei einer Frequenzdekade liegt (Pohl, H.P., Dielectrophoresis, Cambridge University Press, (1978); ARNOLD, W.-M. and ZIMMERMANN, U., J. Electrostat. 21,151 (1988)). Das hat zur Folge, daß die Unterscheidung oder differenzierte Bewegung verschiedener Partikeln relativ große Unterschiede in der Struktur oder den dielektrischen Eigenschaften erfordert. Ein weiteres Problem ist, daß vor allem bei kleiner werdendem Partikelradius andere Kräfte (lokale Strömung, thermische Bewegungen u.a.) an Einfluß gewinnen und bei einem Partikelradius von kleiner als einem Mikrometer die Polarisationskräfte sogar übersteigen. Bei kolloidalen Partikeln, bei denen die Polarisierbarkeit weit unter der von biologischen Zellen liegt, ist von Nachteil, daß relativ hohe Steuerspannungen (etwa 3 bis 10-fache Werte) zur Erzielung der gleichen Kraftwirkungen angewendet werden müssen.

Das ist der Grund, warum sich die beiden o. a. Prinzipien bisher nur bei relativ großen Partikeln anwenden lassen und seit langem nach einer Möglichkeit der Verstärkung der Feldeffekte gesucht wird.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein verbessertes Verfahren zur orts- und/oder typselektiven Steuerung der Position und/oder der Positionsänderung suspendierter Partikel in einem Multielektrodensystem und eine Vorrichtung zu dessen Ausführung anzugeben, mit denen ohne eine Erhöhung der Feldamplitude eine erhebliche Verstärkung der Polarisationskräfte bei vorher bestimmbar Frequenzen erreicht und die natürliche Frequenzbreite der Kraftwirkungen, die sich aus den dielektrischen Dispersionen ergibt, deutlich verringert bzw. eingeengt wird.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren und eine Vorrichtung mit den Merkmalen der Patentansprüche 1 oder 9 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen. Bevorzugte Verwendungen der Erfindung sind im Anspruch 20 angegeben.

Es sollen insbesondere Elektrodensysteme angegeben werden, in denen die Verstärkung der Polarisationskräfte in lokal begrenzten Bereichen (typische Abmessungen in allen drei Dimensionen einige hundert Mikrometer und kleiner) auf der Grundlage der frequenzselektiven Verstärkung der elektrischen Feldkräfte durch die Erzeugung von räumlich begrenzten Resonanzen erfolgt.

Bei den erfindungsgemäß eingesetzten Multielektrodensystemen handelt es sich zunächst um offene Schwingkreissysteme, in denen im betrachteten Frequenzintervall ( $\geq 100\text{Hz}$ ) keine Resonanzerscheinungen zu erwarten wären. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung konnte jedoch überraschenderweise festgestellt werden, daß die offenen Schwingkreissysteme durch die Partikelsuspensionen geschlossene Netzwerke bilden, in denen Resonanzen insbesondere in niedrigen Frequenzbereichen erzielbar sind.

Die Verwendung extrem miniaturisierter Elektrodensysteme (typische Abmessungen in zwei Dimensionen im  $\mu\text{m}$ -Bereich, in der dritten Dimension von einigen Millimetern und darunter) und deren planare bzw. dreidimensionale Anordnung bzw. Verschaltung mit kapazitiven, induktiven und ohmschen Elementen sowie die Applikation hochfrequenter elektrischer Felder (z. B.  $f > 10\text{ kHz}$ ) einer Amplitude im mV- bis V-Bereich, ermöglicht die Erzeugung von lokal innerhalb der Mikrostruktur auftretenden Resonanzerscheinungen, die die Feldamplitude an diesen Stellen um ein Vielfaches erhöhen. Da die Polarisationskräfte dem Quadrat der Feldstärke proportional sind, treten vervielfachte Partikelabstoßungs-

oder Anziehungskräfte (2 bis 1000-fach und mehr) auf, die zur Lösung der o. a. Aufgabenstellung genutzt werden können.

Erfindungsgemäß werden die Mikroelektroden so angeordnet, in ihren geometrischen Dimensionen gewählt oder mit Materialien beschichtet oder unterlegt, daß vorher festlegbare kapazitive, induktive und ohmsche Anteile die elektrischen Hochfrequenzeigenschaften jeder Elektrode mit dem sie umgebenden Suspensionsmedium bestimmen. Die Anteile der einzelnen Elektroden bilden nach der elektrischen Verbindung über die eingefügte Partikelsuspension Netzwerke mit Resonanzerscheinungen aus, die genau so auf einem Substrat (Glas, Silizium etc.) angeordnet werden, daß die Feldstärken dort, wo eine Partikelmanipulation oder -vermessung stattfinden soll, durch Resonanz überhöht werden, z.B. im Elektrodenzwischenraum. Die Erzeugung von Resonanzen kann durch Integration weiterer Bauelemente oder auch die externe Beschaltung mit Kondensatoren, Induktivitäten und Widerständen unterstützt bzw. bezüglich ihrer Frequenzlage verschoben und bestimmt werden. Die Kalibrierung der Resonanzfrequenz kann auch während des Betriebes erfolgen. Dieser Effekt kann sowohl für die Partikelorientierung, -bewegung, -halterung aber auch für die dielektrische Vermessung genutzt werden.

Die Resonanzeffekte können durch die Verwendung verschiedener Signalformen der Elektrodenbesteuerung selektiv, insbesondere nur für einen bestimmten spektralen Anteil des Ansteuersignals ausgenutzt werden. In Frage kommen Sinus-, Rechteck-, Dreieck- oder andere periodische und aperiodische Signalverläufe. Je nachdem, in welchem Maße die Fourierreihen zur Beschreibung dieser Signale Grund- und Oberwellen aufweisen, können Resonanzen der Grundfrequenz als auch ihrer Harmonischen ausgenutzt werden.

Die lokale Beschränkung der Resonanzen auf eine oder mehrere Bereiche von weniger als einem Kubikmillimeter wird durch

die Ausführung der Elektrodenenden (zirkular, reihenförmig gegenüberliegend usw.) und die Art der Suspensionslösung bestimmt. Aus elektronischer Sicht sind diese Anordnung als impedanzmäßig nicht definiert abgeschlossene Systeme zu bezeichnen. Wie in den Ausführungsbeispielen gezeigt wird, lassen sich jedoch Elektrodenanordnungen finden, bei denen die Abschlußimpedanz der Lösung lediglich die Amplitude der Resonanzen, nicht jedoch deren Frequenz bestimmt.

Gegenüber den in der Elektronik bekannten Resonanzeffekten sind die polarisierten Partikeln und Zellen im erfindungsgemäßen Verfahren als Probekörper für die resonanzbedingte Feldstärkeüberhöhung im Inneren des Dielektrikums (Flüssigkeit) eines Kondensators aufzufassen, deren Vorhandensein ihrerseits die Resonanzerscheinungen des System beeinflussen und über die Verstimmung der Resonanzfrequenz zur Partikelseparation, -sammlung und -halterung genutzt werden kann.

Besonders wirksam ist die Integration abstimmbarer kapazitiver, induktiver oder/und ohmscher Elemente, mit denen dann einzelne Elektroden individuell abgestimmt oder Resonanzen in ihrer Frequenzlage definiert und nach vorgebbaren Programmen verändert werden können. Das hat den Vorteil, daß bei gleichbleibender Elektrodenkonfiguration von außen steuerbar die Polarisationskräfte frequenzabhängig verstärkt oder gedämpft werden können. Dieser Effekt kann benutzt werden, um einzelne Partikelklassen mit gleichen oder ähnlichen dielektrischen Eigenschaften von anderen Partikelsorten abzutrennen.

Prinzipiell lassen sich die folgenden Prinzipien zur Kalibrierung und Regelung des gewünschten Resonanzeffektes anwenden:

1. Aktiver Abgleich der Schwingkreiselemente, wie Kapazitäten, Induktivitäten und Widerstände;



2. Applikation von zwei oder mehr Feldern gleicher oder entgegengesetzter Drehrichtung unterschiedlicher Frequenz;
3. Applikation von Feldern nach Pkt.2 mit jeweils unterschiedlicher aber einstellbarer Amplitude;
4. Applikation von Feldern nach Pkt.2 mit jeweils unterschiedlicher Anschaltzeit der Felder;
5. Applikation von Feldern nach Pkt.2 mit jeweils kalibrierbarer Frequenz der Felder zueinander;
6. Applikation von periodischen Signalen mit verschiedenem Oberwellenanteil;
7. Kombinationen der unter Pkt. 1 bis 6 genannten Verfahren.

In der Praxis kann die erfindungsgemäße Ausbildung von Resonanzen in Mikroelektrodensystemen nach den folgenden Prinzipien erzielt werden:

Es ist möglich, die Resonanzbedingungen über die Dimensionierung/Gestaltung der Elektroden unter Berücksichtigung der konkreten Anforderungen durch Mikrostrukturierung einzustellen. So kann z. B. das in Figur 1 gezeigte Elektrodensystem bzw. das in Figur 2 gezeigte, entsprechende Ersatzschaltbild mit üblichen Verfahren der computergestützten Netzwerkanalyse (Berechnung von Spannungsverläufen an beliebigen Orten im Netzwerk) analysiert und modelliert werden.

Ferner können die erforderlichen Eigenschaften des Elektrodensystems experimentell ermittelt werden. Dazu wird ein einem Elektrodensystem entsprechendes Netzwerk (Ersatzschaltbild) gegenständlich aufgebaut und vermessen, während ggf. zusätzliche externe Kapazitäten und/oder Induktivitäten angelegt und abgestimmt werden. Diese Verfahrensweise wird insbesondere dann bevorzugt, falls die Elektrodenzahl verhältnismäßig hoch (z. B.  $\leq 8$ ) ist.

Bei der Realisierung experimentell bestimmter Werte sind wiederum zwei Vorgehensweisen praktikabel. Erstens ist es

möglich, bei der Prozessierung der Elektroden z. B. mit der Halbleitertechnologie die ermittelten Schaltelemente auf dem Chip mit zu integrieren. Dies hat die Vorteile, daß die kapazitiven/induktiven Elemente selbst Dimensionen im Mikrometerbereich einnehmen und nahezu keine Rückwirkung auf die Schaltung des Versorgungsgenerators aufweisen. Zweitens kann das Chip extern von außen beschaltet werden. Dies hat die Nachteile verringerter Gestaltungsmöglichkeiten und der über Zuleitungen nur mittelbaren Wirkung der Bauelemente im Elektrodenraum.

Schließlich ist es möglich, regelbare Bauelemente mit im Multielektrodenystem auf dem Chip zu integrieren. Zu diesen zählen insbesondere aktive Bauelemente wie Schaltdioden, Transistoren, steuerbare Kapazitätsdioden etc.. Hierbei ergibt sich der Vorteil, daß die jeweiligen Resonanzen abgestimmt durchfahren werden können und somit eine externe Computersteuerung des Systems ermöglicht wird. Eine weitere Variante in diesem Zusammenhang ist der Einsatz mechanischer Stellmittel unter Ausnutzung magnetischer oder piezoelektrischer Effekte (z. B. Feldbeeinflussung in FET).

Eine Vielzahl von Möglichkeiten bietet die halbleitertechnologische Prozessierung von planaren Elektrodenstrukturen, da hier Kapazitäten, Induktivitäten und ohmsche Anteile im Mikrometerbereich realisierbar sind. Diese Anordnung hat gegenüber einer Beschaltung von außen den Vorteil, daß sich die Netzwerke so anordnen lassen, daß die Elektroden nicht gleichmäßig, sondern in festlegbarer Weise beschaltbar sind. Weiterhin trägt dieses Prinzip wesentlich zur räumlichen Begrenzung der Resonanzerscheinung auf dem Chip oder der mikrostrukturierten Oberfläche bei.

Die erfindungsgemäße Multielektrodenanordnung kann z. B. 2, 3, 4 oder mehr Elektroden umfassen. Sie kann in Chipform in

ein Keramikgehäuse mit elektrischen Anschlüssen eingefügt sein.

Bevorzugte Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die beiliegenden Figuren näher erläutert.

**Figur 1** veranschaulicht einen Ausschnitt aus einer mikrostrukturierten Oberfläche.

Es sind vier Elektroden 10a-d, 12a-d, 13a-d (schwarz) gezeigt, die einen Zentralbereich 14 mit einem suspendierten Partikel von etwa 100  $\mu\text{m}$  Durchmesser oder darunter begrenzen. Die Elektroden sind so ausgeführt, daß kapazitive und induktive Anteile bei Wechselspannungsansteuerung auftreten. Durch das Unterlegen einer verbreiterten Metallschicht 12a-d (z.B. Gold, Dicke 1  $\mu\text{m}$ , Breite 100  $\mu\text{m}$ ) mit einem Dielektrikum 11a-d (möglichst hoher Dielektrizitätskonstante) wird ein Kondensator gebildet, der gegen Masse (hier das schematisch angegebene Substrat 16) verschaltet ist. Die mäanderförmigen Zuleitungen 13a-d) vergrößern die Induktivitäten der Elektrodenzuführungen. Die Aufeinanderzuführung der Elektroden und die elektrische Verbindung der Elektrodenenden im zentralen Bereich 14 über die Suspensionslösung führt dazu, daß die induktiven, kapazitiven und ohmschen Elektrodenanteile zu einem elektronischen Netzwerk verknüpft werden. Je nachdem, ob die Ausführung der Elektroden gleichartig oder unterschiedlich ist, können im Zentralbereich 14 der Elektroden Resonanzen erzeugt werden, die die Feldkräfte auf das Teilchen gegenüber der gleichen Ansteuerungsamplitude der Elektroden ohne die beschriebene Anordnung um ein Vielfaches steigern (in Elektrolytlösungen können das z.B. Werte zwischen  $>1$  und 1000 oder mehr sein). Jedoch dämpft die Leitfähigkeit der Suspensionslösung die Höhe der Resonanz.

In Figur 2 ist ein vereinfachtes Ersatzschaltbild für die in Figur 1 gezeigte Elektrodenkonfiguration dargestellt. Es ist ersichtlich, daß die Verschaltung der Leitungskapazitäten 21a-d), der Elektrodeninduktivitäten 22a-d, der Suspensionslösungswiderstände 23a-d zwischen den Elektroden und die Kapazitäten zwischen den Elektroden 24a-d zu einem Netzwerk mit vier Eingangspolen 25a-d führt. Dieses System zeigt bei Wechselspannungsansteuerung (Pol 25a - Phase = 0 Grad, Pol 25b - Phase = 180 Grad, Pol 25c - Phase = 0 Grad, Pol 25d - Phase = 180 Grad), aber auch bei Rotationsfeldanregung (Pol 25a - Phase = 0 Grad, Pol 25b - Phase = 90 Grad, Pol 25c - Phase = 180 Grad, Pol 25d - Phase = 270 Grad) ein deutliches Resonanzverhalten. Die Frequenz kann sehr exakt über die Induktivitäten und Kapazitäten festgelegt werden.

In Figur 3 ist das Rotations-Geschwindigkeitsspektrum von Sephadexpartikeln mit 70  $\mu\text{m}$  Durchmesser dargestellt. Zur Messung wurde eine Mikrokammer entsprechend Figur 1 verwendet, die mit vier 90-Grad phasenverschobenen Rechtecksignalen mit 2 Volt Spitze-Spitze angesteuert wurde. Der Abstand zweier gegenüberliegender Elektroden betrug 100  $\mu\text{m}$  und es wurde eine wässrige Lösung verwendet. Bei Ansteuerung mit einer über den gesamten Frequenzbereich konstanten Spannung wurde ein Lorenzspektrum erhalten (●). Nachdem auf dem Mikrokammerchip induktive und kapazitive Elemente integriert wurden, erhält man das durch Resonanzerscheinungen innerhalb des Zentralbereichs der Mikrokammer veränderte Spektrum (□). Deutlich ist hier die Verstärkung des Drehmomentes bei der Resonanzfrequenz,  $f_{\text{res}}$ , um mehr als den Faktor 30, sowie seine Verringerung bei einem Drittel von  $f_{\text{res}}$  zu erkennen. Diese Verringerung ist auf die Resonanzverstärkung der dritten Harmonischen bei der Meßfrequenz  $1/3 f_{\text{res}}$  zurückzuführen. Die Ursache hierfür ist der in diesem Falle zur Grundfrequenz entgegengesetzte Drehsinn der 3. Harmonischen.

Das in Figur 1, 2 und 3 beschriebene Quadrupolelektrodensystem eignet sich einerseits zur Zentrierung oder Halterung eines Partikels oder der Aggregatbildung aus Partikeln, insbesondere bei der Resonanzfrequenz, aber auch zur Vermessung einzelner Partikeln (z.B. Zellen) im Rotationsfeld. Die Drehgeschwindigkeit des Partikels steigt dann im Resonanzfall sehr scharf und deutlich in Abhängigkeit von der Drehfrequenz des Feldes an. Werden Rechteckfelder appliziert, treten Harmonische der Grundfrequenz und damit weitere Resonanzen in den Frequenzschichten der Kräfte, die auf die Partikeln wirken, auf.

In den Figur 4A,B ist der Einfluß einer Resonanz auf das Rotationsverhalten von zwei dielektrischen Partikeln (hier lebende Zellen pflanzlicher oder tierischer Herkunft) geringfügig unterschiedlicher Eigenschaften (Dielektrizitätskonstante und/oder Leitfähigkeit) und damit die Unterscheidung mikroskopisch kleiner Teilchen im hochfrequenten Drehfeld dargestellt. Die Kurve 41 zeigt das Rotationsverhalten (Rot = Rotationsgeschwindigkeit als Funktion der Drehfrequenz des Feldes ( $f$ )) ohne Resonanz für das Teilchen vom Typ 1 (z.B. eine Zelle 1). Es tritt eine Rotation der Zelle sowohl entgegengesetzt zur Feldrehrichtung (niedrige Frequenzen) als auch in Richtung des Drehfeldes (hohe Frequenzen) auf. Entsprechendes ist für ein Partikel vom Typ 2 (z.B. eine Zelle 2) mit der Kurve 42 dargestellt. Legt man die Resonanz in die Nähe des Nulldurchganges der beiden Rotationsspektren, so wird der Übergang im Rotationsverhalten (Richtungswechsel) extrem steil (Kurve 42- -> Kurve 43, Kurve 41- -> Kurve 44). Unter diesen Bedingungen werden die Unterschiede in den dielektrischen Eigenschaften beider Teilchen also so ausgenutzt, daß sie sich schnell in

unterschiedliche Drehrichtung bewegen. Der Vorteil dieser Ansteuerungsart in Verbindung mit einer Resonanz ist, daß sich Teilchen, die sich in ihren Rotationsspektrum in diesem Frequenzbereich nur geringfügig unterscheiden, dennoch nach Kurve 43, 44 entgegengesetzt drehen. Nach diesem Verhalten kann man diese Teilchensorten sehr leicht identifizieren und separieren. Das gleiche Verhalten würden Partikeln in elektrischen Wanderfelder zeigen, wobei hier die entgegengerichtete Wanderbewegung der Teilchen bei der Resonanzfrequenz direkt zum Trennen benutzt werden kann.

Figur 4B zeigt die gleiche Resonanzwirkung auf die dieelektrophoretischen Kräfte, die ein Partikel im Feldgradienten antreiben (45-Kraftspektrum der Zellen vom Typ 1, 46-Kraftspektrum der Zellen vom Typ 2, 47-Veränderung des Spektrums beim Auftreten einer Resonanz der Zelle vom Typ 1, 48-Veränderung des Spektrums beim Auftreten einer Resonanz der Zelle vom Typ 2).

Figur 5 stellt eine Resonanzstruktur dar, bei der der Bereich 51 durch ein elektrisches Feld zell- und partikelfrei gehalten wird. Zur Verstärkung des Feldes im Bereich 51 wird die Resonanzanordnung aus den Induktivitäten 53A und 53B und den Kapazitäten 55A und 55B ausgenutzt. Die stets vorhandene Kapazität der Kammstruktur 51 wird durch die Unterlage der Elektroden mit dem Dielektrikum 52A und 52B erhöht. Der Bereich 51 kann siebartig ausgeführt sein, so daß die Lösung durch die Struktur hindurchtreten kann, die Partikeln jedoch durch das elektrische Feld zurückgehalten werden. Das Element 56 kann als Verstimmungselement zur Justage der Resonanzfrequenz genutzt werden. Es wird auf dem Substrat prozessiert oder mikromechanisch oder auf anderem Weg über

die Flächen 52 geschoben, wobei kapazitive Änderungen auftreten, die die Schwingkreise verstimmen.

Figur 6 stellt eine Wanderwellendielektrophoresestruktur dar. Die Partikelbewegung wird zwischen und/oder über den kammartig angeordneten Mikroelektroden (61) induziert. Wird die Struktur mit gemischten Sinussignalen (z.B. Rechtecksignalen mit dem Tastverhältnis 1:1) entsprechend der angegebenen Phasenlage angesteuert, so können die Induktivitäten 63 und Kapazitäten 62 so ausgelegt werden, daß die gewünschte Harmonische des Steuersignals durch Resonanz verstärkt wird. Dadurch ist es zum Beispiel möglich in der Kammerstruktur dieser Harmonischen die gleiche Amplitude zu verleihen wie der Grundfrequenz. Je nach Phasenbeziehung der harmonischen Frequenzen lassen sich dadurch z.B. zwei entgegengesetzt wandernde Felder eines bestimmten Frequenzverhältnisses (z.B.  $f$  und  $3 \cdot f$ ) induzieren.

Figur 7 zeigt eine planare Matrix-Resonanzstruktur zur Partikel- und Zellmanipulation. In dieser Struktur können gleichzeitig eine größere Menge von Partikeln oder Zellen einer Suspension manipuliert werden. Dabei steht die Suspension in den Gebieten 74 mit den Elektroden 71 galvanisch oder über eine kapazitiv wirkende Isolierschicht in elektrischem Kontakt. Zur Ansteuerung werden 4 um  $90^\circ$  phasenverschobene Signale an den Punkten 73A, 73B, 73C und 73D eingespeist. Durch die Beschaltung mit geeigneten Induktivitäten 72 kommt es zu einer Feldstärkeresonanzüberhöhung und einer entsprechenden Verstärkung der Feldkräfte auf einzelne Partikeln oder Zellen in den Lösungsräumen 74. Die Anzahl der in jedem Lösungsraum 74 vorhandenen Partikeln beeinflußt das Resonanzverhalten innerhalb dieses Lösungsraumes und führt z.B. zu einer

Verminderung der auf weitere Partikeln wirkenden Feldkräfte. Durch dieses Verhalten der vorgeschlagenen Struktur läßt sich eine gleichmäßige Befüllung aller Lösungsräume erreichen.

Figur 8 zeigt eine Resonanzstruktur zur Trennung von suspendierten Partikeln oder Zellen in einem Lösungskanal 83 durch Diffusion und Feldkräfte. Die Struktur wird pulsierend oder kontinuierlich über die Anschlüsse 81 und 85 so angesteuert, daß die Partikeln oder Zellen im Wechselspiel von diffusions- und feldinduzierter Bewegung entlang des Kanals 83 wandern. Dabei werden Partikeln mit einem hohen Diffusionskoeffizienten und einer geringen positiven Dielektrophorese besonders schnell wandern. Wenn die gezeichnete Struktur so betrieben wird, daß das Suspensionsmittel die Kapazität der Elektroden 82 gegen die gemeinsame Gegenelektrode so einstellt, daß eine Resonanzüberhöhung des Feldes erfolgt, so würde die Anwesenheit von Partikeln diese Kapazität verändern und die Feldstärke an diesem Ort verringern. Dadurch gewinnt die Diffusion die Oberhand über die sammelnden Feldkräfte und unerwünschte Häufungen der zu trennenden Partikeln oder Zellen werden vermieden.

Anwendungen der erfindungsgemäßen Steuervorrichtung liegen im Sortieren und Auftrennen von Partikelgemischen, bei medizinischen, biologischen, biotechnologischen, physikalischen und chemischen Applikationen, insbesondere im Zusammenhang mit dem Nachweis, der Charakterisierung und der Identifizierung von Zellen, Organellen, Viren und Makromolekülen, im Antrieb von dielektrischen Mikromotoren oder Mikroaktuatoren vom Rotations- oder Lineartyp, in der gerichteten Bewegung, Sortierung, Vermessung, Positionierung, Zerstörung und Modifizierung suspendierter Partikeln, in Mikromanipulationseinrichtungen, in der



Assemblierung und Verkapselung von Pharmaka, in der Formung von Mikropartikeln, in der Mikrochemie (insbesondere bei der Synthese flüssiger oder fester Phasen, die erfindungsgemäß über das Resonanzprinzip gehalten, zusammengeführt, zur Reaktion gebracht, geteilt und/oder separiert werden), oder in der Kombination mit spektroskopischen Meßverfahren (insbesondere mit der in der Veröffentlichung WO 96/16313 beschriebenen Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie oder anderen, insbesondere konfokalen Fluoreszenzmeßtechniken, wie sie beispielsweise in der Veröffentlichung WO 96/13744 und der europäischen Patentanmeldung Nr. 96 116 373.0 beschrieben sind).

Patentansprüche

1. Verfahren zur orts- und/oder typselektiven Steuerung der Position und/oder der Positionsänderung suspendierter Partikel in einem Multielektrodensystem unter der Wirkung von Polarisationskräften, die in den Partikeln durch elektrische Wechselfelder in dem Multielektrodensystem induziert werden, welche Partikel biologische oder synthetische Objekte mit Abmessungen umfassen, die im wesentlichen denen von biologischen Zellen oder Zellorganellen, Viren oder Makromolekülen entsprechen,  
**dadurch gekennzeichnet, daß**  
die Polarisationskräfte durch resonante Erhöhung oder Dämpfung der Feldstärke der elektrischen Wechselfelder bei bestimmten Frequenzen in mindestens einem lokal abgegrenzten Bereich in dem Multielektrodensystem verstärkt oder verringert werden.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem die resonante Feldstärkeänderung durch die externe Verstellung regelbarer Bauelemente erzielt wird, die in dem Multielektrodensystem vorgesehen sind.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem die resonante Feldstärkeerhöhung durch die passiv elektrischen Eigenschaften der Partikelsuspension selektiv beeinflusst wird, wobei insbesondere durch die Anwesenheit oder Passage

eines oder mehrerer Partikel in einem Bereich in dem Multielektrodensystem die elektrischen Eigenschaften der Suspension an diesem Ort so verändert werden, daß das Resonanzverhalten der Mikrostruktur verändert, festgelegt oder elektronisch vergestimmt wird, so daß die Resonanzbedingungen gegebenenfalls durch die Änderung der passiven elektrischen Eigenschaften der Suspension zeitselektiv erst bei der Passage oder Anwesenheit einer bestimmten Teilchensorte, durch dieses Teilchen selbst erreicht oder beendet wird.

4. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die resonante Feldstärkeerhöhung bei einer bestimmten Grundfrequenz der elektrischen Wechselfelder und/oder Vielfachen der Grundfrequenz erzielt wird und eine rd. 2 bis 1000-fache Verstärkung aufweist, wobei insbesondere die elektrischen Wechselfelder durch periodische Steuerspannungen einer Frequenz  $\geq 100$  Hz mit Amplituden zwischen 0,1 und 200 V erzeugt werden und die zur Felderzeugung applizierten periodischen Signale Sinus-, Dreieck-, Rechteck-, Tristateform oder eine Kombinationen aus diesen Signalarten aufweisen können, von denen ggf. bestimmte Fourierkomponenten durch die Resonanz verstärkt werden, welche Fourierkomponenten des periodischen Steuersignals gleichzeitig Feldanteile verschiedener Rotations- bzw. Translationsrichtungen erzeugen können, wobei durch die Resonanz die Amplituden der Fourierkomponenten des Feldes zueinander abgestimmt werden können.

5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die elektrischen Wechselfelder alternierende, rotierende

oder wandernde elektrische Felder umfassen, so daß in zirkulär oder/und linear angeordneten Multielektrodenanordnungen Partikelrotationen bzw. -translationen oder -positionierungen erfolgen, die nach dem Prinzip der Elektrorotation, der Dielektrophorese, der Levitation oder der Wanderwellentechnik induziert werden, wobei bestimmte Frequenzbereiche der jeweiligen Bewegungskennlinien (Spektren) durch die Resonanzerscheinungen verstärkt oder gedämpft werden.

6. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem eine Halterung der Partikeln, einzeln oder in Gruppen oder Aggregaten in Feldtrichtern oder Feldkäfigen durch die Resonanzerscheinungen verstärkt oder geschwächt wird.

7. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Partikel ein Gemisch aus verschiedenen Partikelarten umfassen und die Resonanzen die Bewegung eines Teils oder aller dieser Partikelarten verändern, wobei z. B. eine oder mehrere Partikeltypen bei der Resonanzfrequenz von negativer zu positiver Dielektrophorese bzw. ein Richtungswechsel bei der Partikelrotation bzw. bei der Bewegung im Wanderwellenfeld auftritt.

8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem 2 oder mehr Feldfrequenzen moduliert, gleichzeitig über verschiedene Elektroden-Subsysteme oder auch alternierend mit gleicher oder entgegengesetzter Rotations- oder Translationsrichtung und einstellbarer Amplitude genutzt werden, indem die Resonanzfrequenz auf Bereiche des dielektrischen Partikelspektrums (Kraft als Funktion der

Frequenz) gelegt wird, bei der sich die Teilchenarten unterscheiden.

9. Steuervorrichtung zur orts- und/oder typselektiven Steuerung der Position und/oder der Positionsänderung suspendierter Partikel in einem Multielektrodensystem unter der Wirkung von Polarisationskräften, die in den Partikeln durch elektrische Wechselfelder in dem Multielektrodensystem induziert werden, welche Partikel biologische oder synthetische Objekte mit Abmessungen umfassen, die im wesentlichen denen von biologischen Zellen oder Zellorganellen, Viren oder Makromolekülen entsprechen,

dadurch gekennzeichnet, daß das Multielektrodensystem mit der Partikelsuspension ein elektrisches Netzwerk bildet, in dem Resonanzmittel zur Ausbildung einer resonanten Erhöhung oder Dämpfung der Feldstärke der elektrischen Wechselfelder bei bestimmten Frequenzen in mindestens einem lokal abgegrenzten Bereich in dem Multielektrodensystem vorgesehen sind.

10. Steuervorrichtung gemäß Anspruch 9, bei der die Resonanzmittel durch die kapazitive und/oder induktive Ausführung der Elektroden des Mikroelektrodensystems (z. B. Größe, Geometrie, Materialkomposition der Elektroden) gebildet werden.

11. Steuervorrichtung gemäß Anspruch 9 oder 10, bei der die Resonanzmittel durch regelbare Bauelemente gebildet werden, die in das Multielektrodensystem integriert oder zugeschaltet sind.

12. Steuervorrichtung gemäß Anspruch 9, 10 oder 11, bei der die Resonanzmittel durch die Partikelsuspension, insbesondere die Partikel selbst, gebildet werden.

13. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 12, bei der die Mikroelektroden auf im wesentlichen planaren, isolierenden Trägern, z. B. aus Silizium, Glas, Keramik, Plastik, mindestens ein offenes Elektrodensystem bilden, das kapazitive, induktive und ohmsche Komponenten besitzt und über die Partikelsuspensionslösung zu mindestens einem netzwerkartigen Schwingkreissystem verbunden ist, dessen Resonanzverhalten entweder durch die Prozessierung der Mikroelektroden festgelegt oder durch das Aufbringen weiterer elektronischer Bauteile, wie Induktivitäten und/oder Kapazitäten auf dem Chip fest oder elektronisch abstimmbaar eingestellt ist.

14. Steuervorrichtung gemäß Anspruch 13, bei der das Elektrodensystem in Form von mäander- und/oder schleifenförmigen Ausbildungen gestaltet ist und Unterlegungen bzw. Überdeckungen von diesen mit isolierenden und/oder dielektrischen Schichten aufweist, oder bei der die Mikroelektroden durch paarige, symmetrische, zirkular und/oder lineare Anordnungen Netzwerke mit einem veränderten Einfluß von kapazitiven und/oder induktiven Elementen bilden, wobei sich ggf. einzelne Resonanzräume gegenseitig beeinflussen.

15. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 14, bei der die Mikroelektrodenanordnungen typische Gap-Abmessungen von 10 nm bis zu einigen 100 µm aufweisen und in denen

rotierende oder alternierende elektrische Felder erzeugt werden.

16. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 15, bei der die Mikroelektrodenanordnungen 3-dimensionale Strukturen oder Mehrebenenstrukturen auf einem Substrat aufweisen, das aus Glas, Halbleitermaterial, Plastik oder Keramik besteht.

17. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 16, bei der das Substrat Strukturierungen, passive Bauteile, Oberflächen mit Kanälen, Wällen, Vertiefungen, Durchbrüchen oder Barrieren, und/oder mikromechanische Elemente, wie Klappen, Membranen, verschiebbare Körper oder bewegliche Arme zur Verstimmung der vorhandenen Schwingkreise aufweist, oder bei der die Endstufen oder der gesamte Hochfrequenzgenerator zur Erzeugung der Elektrodensignale oder/und zur Ansteuerung der Bauteile zur Regelung der Resonanzfrequenzen auf dem Substrat integriert sind.

18. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 17, bei der mehrere Mikroelektrodensysteme nebeneinander, hintereinander, versetzt, einander entgegengerichtet, kaskadenförmig, ringartig oder stapelartig angeordnet sind.

19. Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 18, bei der Bauelemente vorgesehen sind, mit denen die Regelung der Resonanzfrequenzen erfolgt und die von einem vorgebbaren Regelprogramm steuerbar sind, welche Bauelemente durch aktive Bauelemente wie z. B. Kapazitätsdioden, Feldeffekttransistoren und geregelte Induktivitäten gebildet werden, wobei die Veränderungen in den Resonanzerscheinungen

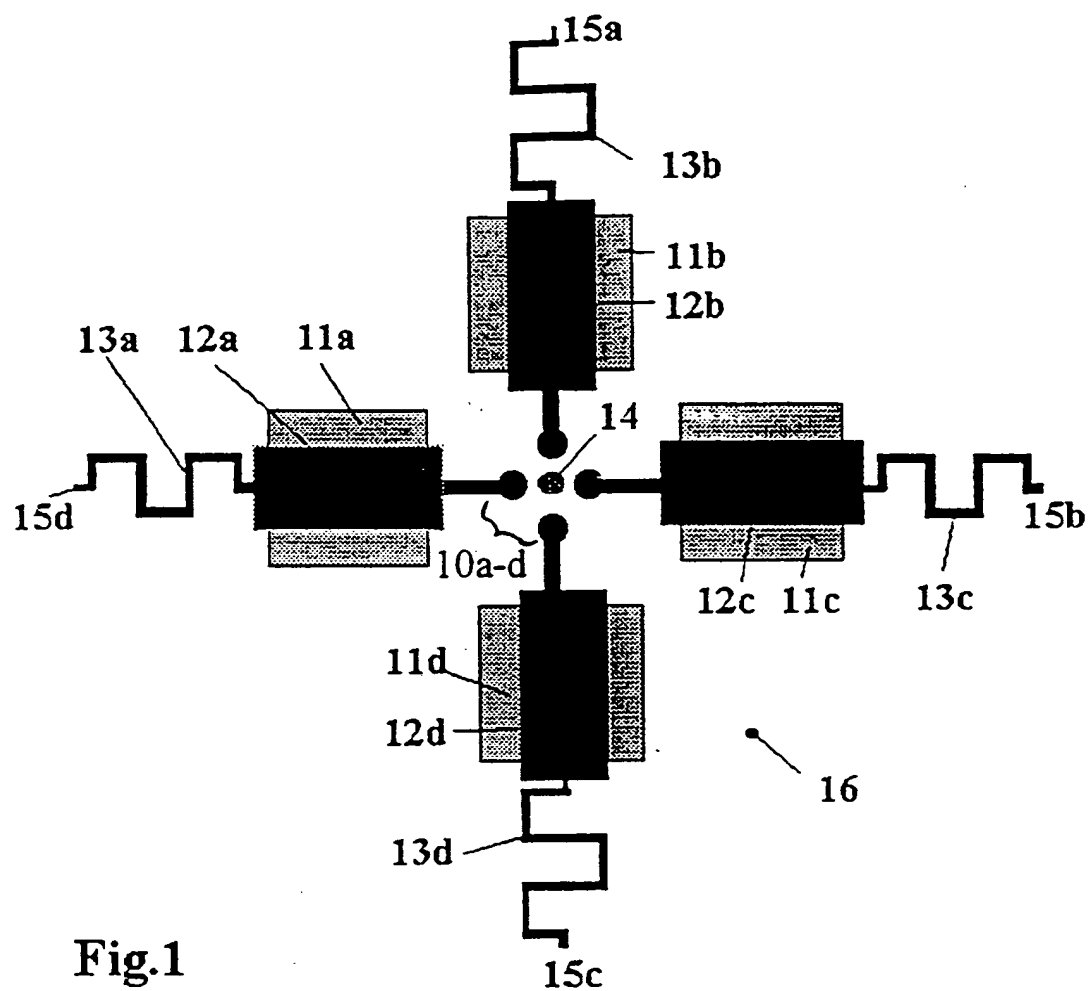
auch durch Zu- oder Abschalten oder Überbrücken von Schwingkreisbauteilen erzeugbar sind.

20. Verwendung einer Steuervorrichtung gemäß einem der Ansprüche 9 bis 19,

- + zum Sortieren und Auftrennen von Partikelgemischen,
- + für medizinische, biologische, biotechnologische, physikalische oder chemische Anwendungen im Zusammenhang mit dem Nachweis und der Identifizierung von Zellen, Organellen, Viren oder Makromoleküle,
- + zum Antrieb von dielektrischen Mikromotoren oder Mikroaktuatoren vom Rotations- oder Lineartyp,
- + zur gerichteten Bewegung, Sortierung, Vermessung und Positionierung suspendierter Partikeln, oder
- + als Bestandteil einer Mikromanipulationseinrichtung.



1/8



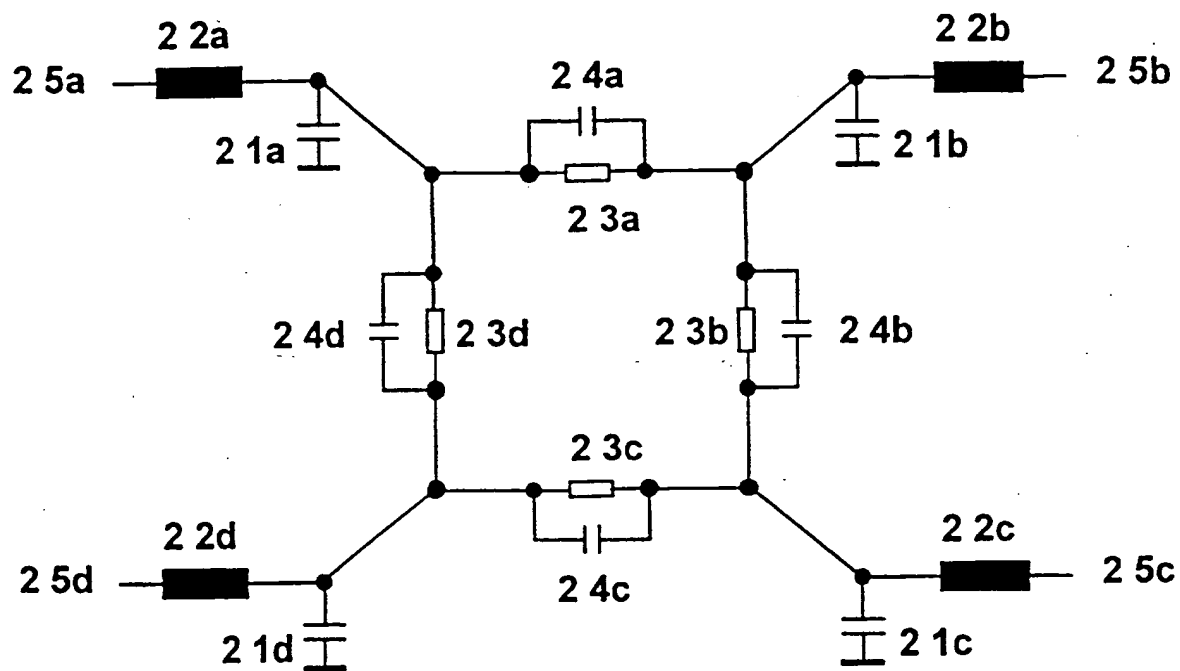


Fig. 2

3/8

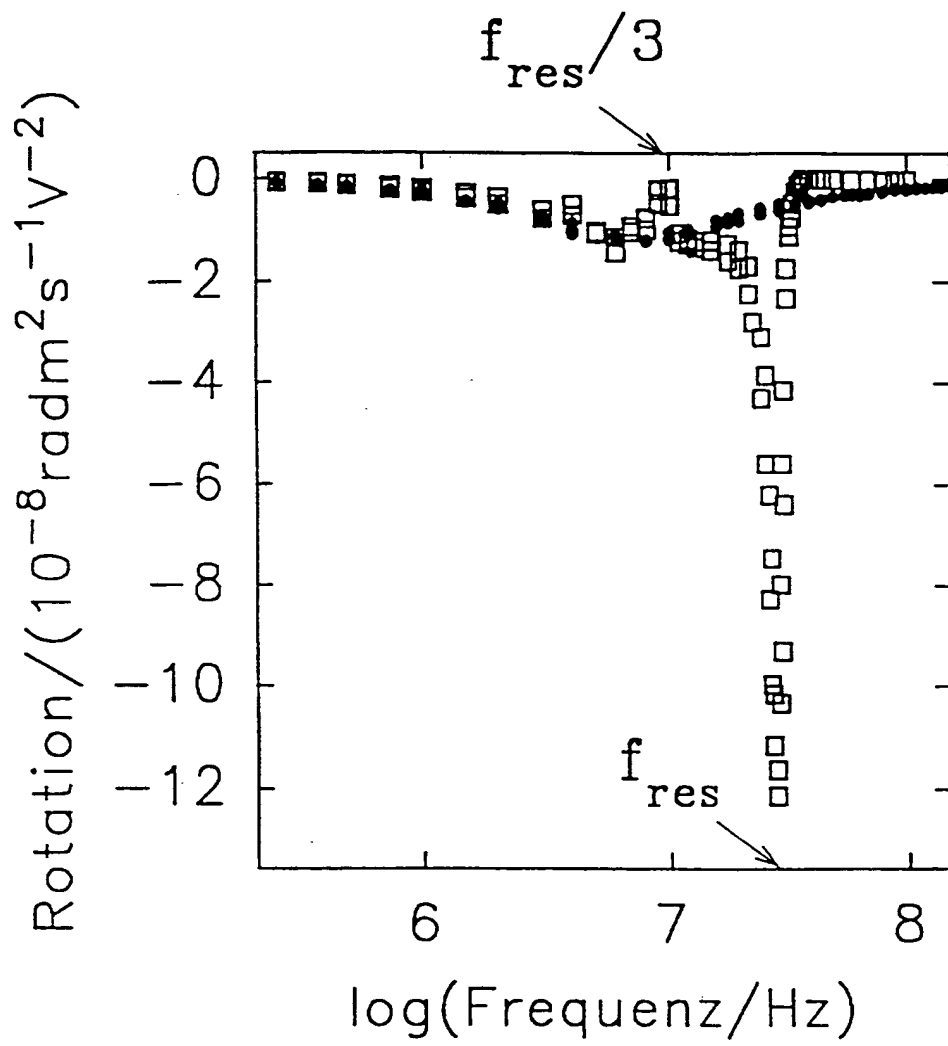
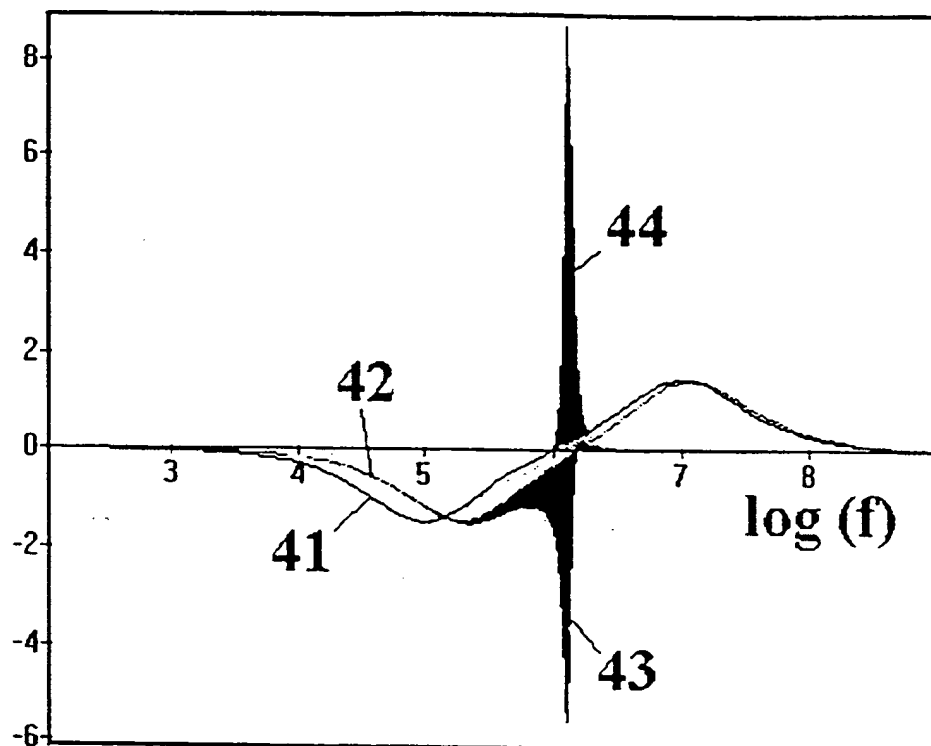


Fig. 3

4/8

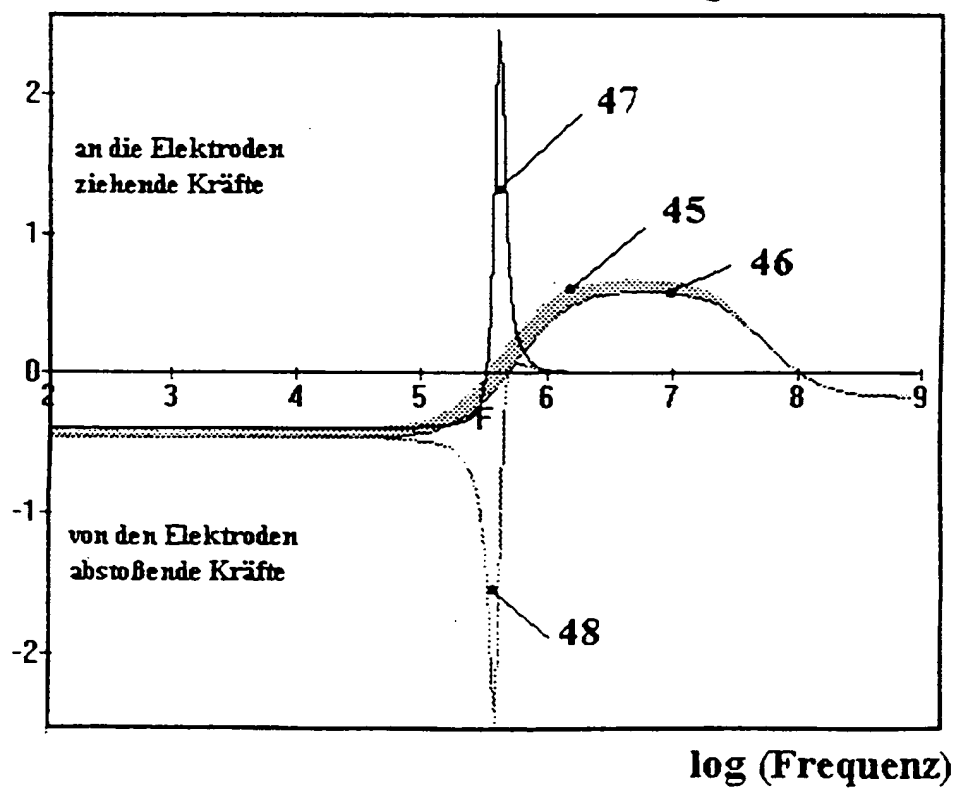
## Rotation

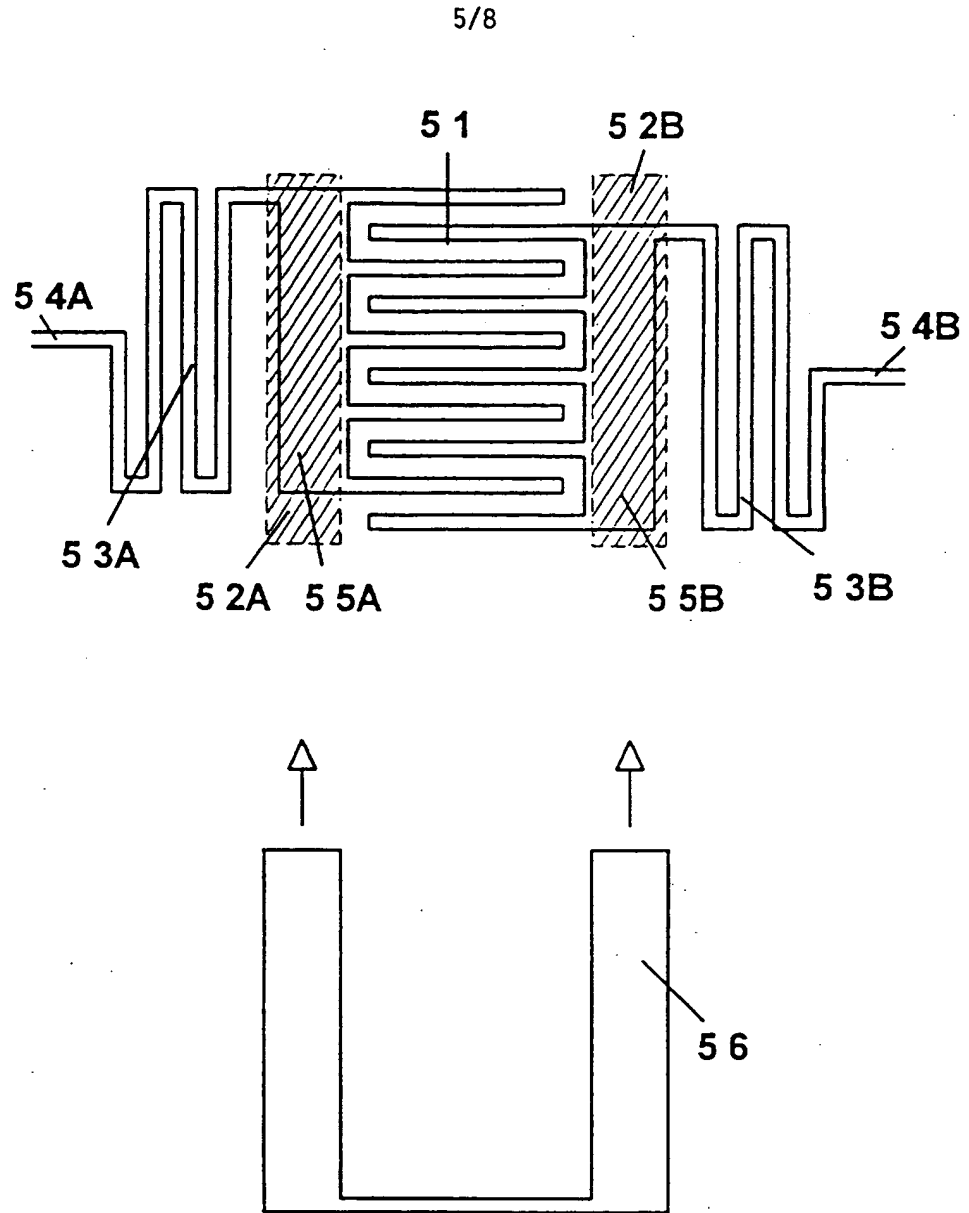
Fig. 4A

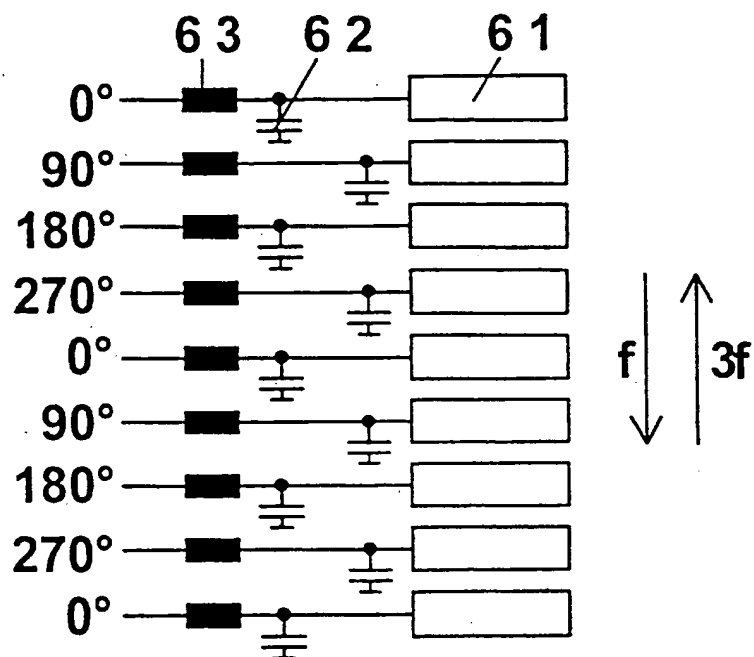


## Dielektrophoretische Kraft

Fig. 4B



**Fig. 5**



**Fig. 6**

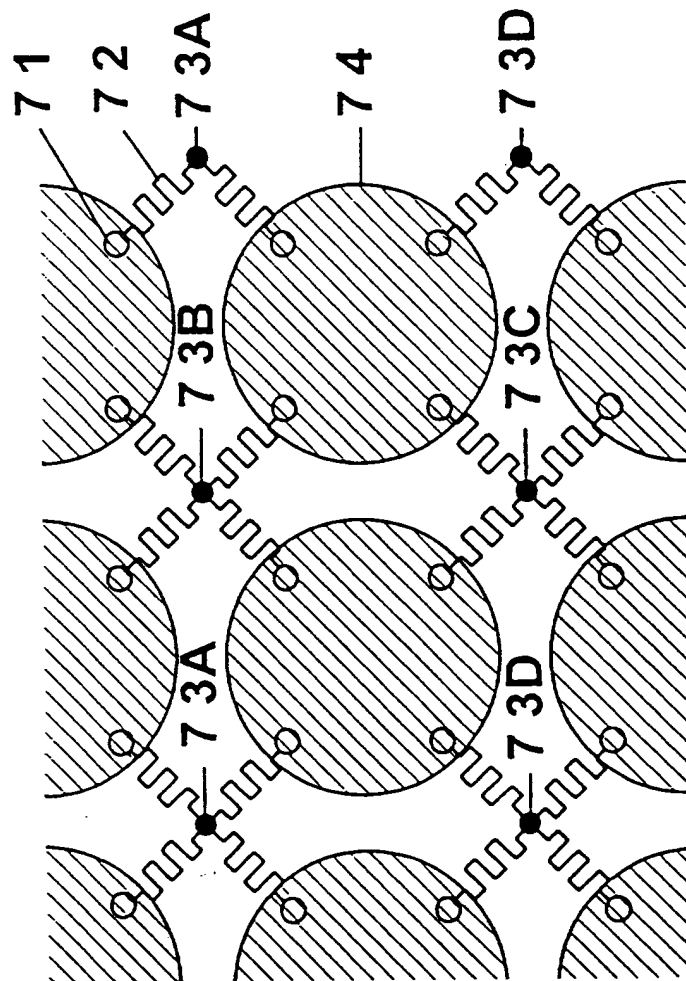


Fig. 7

8/8

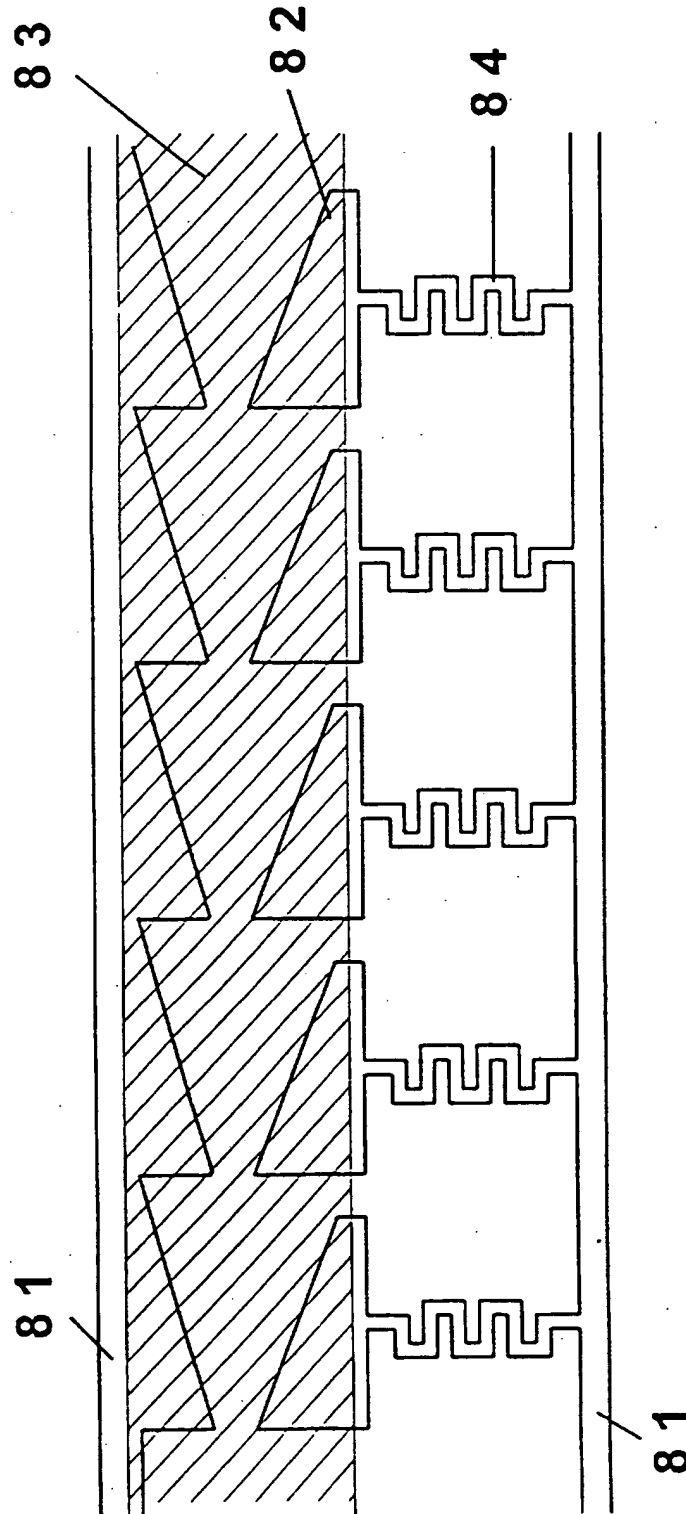


Fig. 8



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.  
PCT/EP 96/05244

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 G01N33/487 B03C5/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 G01N B03C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 44 00 955 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 29 June 1995  see column 2, line 63 - column 4, line 52 see column 5, line 56 - column 6, line 5; claims 1-15,19; figures 1,3,5 ---	1,2,4-6, 8-11, 13-20
X	ELECTROPHORESIS, vol. 13, 1 January 1992, pages 49-54, XP000571705 HAGEDORN R ET AL: "TRAVELING-WAVE DIELECTROPHORESIS OF MICROPARTICLES" cited in the application	1,4-6,9
A	see the whole document  ---	11,13, 14,17, 18,20
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- \* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \* "E" earlier document but published on or after the international filing date
- \* "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \* "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \* "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\* "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\* "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\* "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\* "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 February 1997

Date of mailing of the international search report

19. 02. 97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Decanniere, L

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.

PCT/EP 96/05244

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>IEEE TRANSACTIONS ON INDUSTRY APPLICATIONS, vol. 24, no. 2, March 1988, NEW YORK US, pages 217-222, XP002025002 S.MASUDA ET AL: "Movement of Blood Cells in Liquid by Nonuniform Traveling Field" see page 220, column 2, paragraph 4 - page 222; figure 8B</p> <p style="text-align: center;">---</p>	<p>1,2,4,5, 8-11,15, 20</p>
A	<p>RECORD OF THE INDUSTRY APPLICATIONS CONFERENCE (IAS), ORLANDO, OCT. 8 - 12, 1995, vol. 2, 8 October 1995, INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS, pages 1302-1309, XP000546872 MOESNER F M ET AL: "ELECTROSTATIC DEVICES FOR PARTICLE MICRO-HANDLING"</p> <p style="text-align: center;">---</p>	
A	<p>JOURNAL OF ELECTROSTATICS, vol. 21, no. 2/03 + INDEX, September 1988, pages 151-191, XP000008105 ARNOLD W M ET AL: "ELECTRO-ROTATION: DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR DIELECTRIC MEASUREMENTS ON INDIVIDUAL CELLS AND PARTICLES" cited in the application</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In                      Local Application No                     

PCT/EP 96/05244

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-4400955	29-06-95	WO-A- 9517258 EP-A- 0735923	29-06-95 09-10-96
-----			

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int: Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 96/05244

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 G01N33/487 B03C5/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 G01N B03C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 44 00 955 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 29. Juni 1995  siehe Spalte 2, Zeile 63 - Spalte 4, Zeile 52 siehe Spalte 5, Zeile 56 - Spalte 6, Zeile 5; Ansprüche 1-15, 19; Abbildungen 1, 3, 5 ---	1, 2, 4-6, 8-11, 13-20
X	ELECTROPHORESIS, Bd. 13, 1. Januar 1992, Seiten 49-54, XP000571705 HAGEDORN R ET AL: "TRAVELING-WAVE DIELECTROPHORESIS OF MICROPARTICLES" in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument  ---	1, 4-6, 9
A	---	11, 13, 14, 17, 18, 20

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
  - \* A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
  - \* E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
  - \* L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
  - \* O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
  - \* P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- \* T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \* X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \* Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \* Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

11. Februar 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

19. 02. 97

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Decanniere, L

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 96/05244

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>IEEE TRANSACTIONS ON INDUSTRY APPLICATIONS, Bd. 24, Nr. 2, März 1988, NEW YORK US, Seiten 217-222, XP002025002 S.MASUDA ET AL: "Movement of Blood Cells in Liquid by Nonuniform Traveling Field" siehe Seite 220, Spalte 2, Absatz 4 - Seite 222; Abbildung 8B ---</p>	<p>1,2,4,5, 8-11,15, 20</p>
A	<p>RECORD OF THE INDUSTRY APPLICATIONS CONFERENCE (IAS), ORLANDO, OCT. 8 - 12, 1995, Bd. 2, 8.Oktober 1995, INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS, Seiten 1302-1309, XP000546872 MOESNER F M ET AL: "ELECTROSTATIC DEVICES FOR PARTICLE MICRO-HANDLING" ---</p>	
A	<p>JOURNAL OF ELECTROSTATICS, Bd. 21, Nr. 2/03 + INDEX, September 1988, Seiten 151-191, XP000008105 ARNOLD W M ET AL: "ELECTRO-ROTATION: DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR DIELECTRIC MEASUREMENTS ON INDIVIDUAL CELLS AND PARTICLES" in der Anmeldung erwähnt -----</p>	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 96/05244

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE-A-4400955	29-06-95	WO-A- 9517258 EP-A- 0735923	29-06-95 09-10-96
-----			